

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

AD

(11)Publication number : 02-006541

(43)Date of publication of application : 10.01.1990

(51)Int.Cl.

C08J 9/28
// B01D 67/00
G01N 1/28

(21)Application number : 01-066505

(71)Applicant : MILES INC

(22)Date of filing : 20.03.1989

(72)Inventor : HILDENBRAND KARLHEINZ
NERGER DITTMAR
WEHLING KLAUS

(30)Priority

Priority number : 88 3809523 Priority date : 22.03.1988 Priority country : DE

(54) MANUFACTURE OF POROUS FILM, FILM MANUFACTURE THEREBY, AND USE OF IT AS BASE MATRIX OF SPECIMEN

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a porous polymer film of high absorbability, by dispersing the insoluble filler into a solution including at least two kinds of incompatible polymers, applying the obtained homogeneous casting solution onto a base, and solidifying the precipitate.

CONSTITUTION: A solution including at least two kinds of incompatible polymers, is prepared. As the concrete examples of the combination of the polymers, cellulose ester/polyvinyl ester, polyurethane/polyacrylate, polycarbonate/polyurethane, or the like can be applied. Then the insoluble filler (e.g. talc) is added and dispersed into the insoluble solution generating phase separation, to obtain the homogeneous stable casting solution. The casting solution is applied onto a base, and the precipitate is solidified thereby the porous polymer film can be formed. The obtained porous polymer film can be effectively used as a base matrix for manufacturing a specimen for analyzing urine, or the like.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

AD

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平2-6541

⑤ Int. Cl.⁵ 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 平成2年(1990)1月10日
 // C 08 J 9/28 1 0 1 8517-4F
 B 01 D 67/00 7824-4D
 G 01 N 1/28 U 7808-2G
 審査請求 有 請求項の数 6 (全12頁)

⑭ 発明の名称 多孔性膜の製造方法、それによつて製造される膜並びに試験片における支持マトリックスとしてのその使用

⑯ 特 願 平1-66505

⑰ 出 願 平1(1989)3月20日

優先権主張 ⑱ 1988年3月22日 ⑲ 西ドイツ(DE) ⑳ P 38 09 523.8

㉑ 発 明 者 カールヘインツ・ヒル ドイツ連邦共和国、デイー-4150 クレフエルド、ガツト
 デンプランド ゼンシュトラッセ 147

㉒ 発 明 者 デイットマル・ネルゲル ドイツ連邦共和国、デイー-4150 クレフエルド、パツフ
 エルホフシュトラッセ 74

㉓ 出 願 人 マイルス・インコーポ アメリカ合衆国、インディアナ 46515、エルクハート、ミ
 レーテッド ルトル・ストリート 1127

㉔ 代 理 人 弁理士 津 国 肇 外1名
 最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

多孔性膜の製造方法、それによつて製造される膜並びに試験片における支持マトリックスとしてのその使用

2. 特許請求の範囲

(1) (a) 均一な注型溶液を生成させる過程において、溶液中に相分離を起こす量の少なくとも2種類の不相溶性ポリマーを含む溶液中に不溶性充填剤を分散させ;

(b) 上記で得られた均一な注型溶液を支持体に施し、沈殿の凝固を行なわせることを特徴とする多孔性ポリマー膜の製造方法。

(2) 充填剤が、タルク、二酸化チタン、硫酸バリウム、二酸化珪素、微晶質セルロース、ゼオライト及びベントナイトからなる群より選択される請求項1記載の多孔性膜の製造方法。

(3) 不相溶性ポリマーが、

(a) セルロースエステル類/ポリビニルエステル類;

(b) ポリウレタン/ポリアクリレート類及び/又はアクリル酸コポリマー類;

(c) ポリカーボネート及びコポリマー類/ポリウレタン;

(d) ポリビニル誘導体/ポリスルホン;

(e) ポリアミド類又はポリイミド類/ポリスチレン及び/又はスチレンコポリマー類;

(f) ポリパラジメチルフェニレンオキシド/ポリビニリデンフルオリド及びこれらの組み合わせからなる群より選択される請求項1記載の多孔性膜の製造方法。

(4) 請求項1記載の方法によつて製造される多孔性膜。

(5) 試験片用支持マトリックスとしての請求項4記載の多孔性膜の使用。

(6) 尿分析用試験片用の支持マトリックスとしての請求項4記載の多孔性膜の使用。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、多孔性、特にマクロ細孔性(macro-porous)の膜の製造方法に関する。本方法によつ

て製造された膜は、高い吸収性を示すものであり、したがって、特に試験片用の支持マトリックスとして用いることができる。これらの試験片は、液体中、特に尿中の分析すべき物質の検出のために用いることができる。

試験片としても知られている乾燥化学検出部材によって液体の成分を測定することは、臨床診断学における確立された方法の一つである。しかし、グルコース、蛋白質、ビリルビン、ケトン類、コレステロール又は酵素のような、尿又は血液の中のある成分の検出は、試験片によって広範囲に行なうことができる。診断試験片もまた、熟練していない者によって広範囲に用いられているので、取扱いを可能な限り確実かつ簡単なものにするのが非常に重要である。

診断試験片の取扱いにおいてしばしばエラーの原因となるものは、試験液を試料中に浸漬した後、試験液によって不均一に湿潤せしめられることである。試験領域上に残留する液滴によって不均一な色変化（液滴の問題）が起こる。ヨーロッパ

の特許 A-64, 710 号においてより詳細に説明されているように、この現象によって物質の濃度の増加及び低下が凝製される。更に、多重試験片の場合においては、液ブリッジの形成によって、異なる試験領域の間で、隣接する試験領域の試験の移動が起こる可能性がある（溢出の問題）。

明らかに、マトリックス材料として吸収紙を用いる場合には、用いる紙の吸収性が大きいので、上層試験液 (supernatant test liquid) の問題は大きく解決される。しかしながら、紙は、例えば、表面が不均一であること、組成が変化すること及び機械的安定性のような他の実質的な欠点を有している。

液滴の問題を解決するための試みが、西独国特許明細書第 2, 118, 455 号及び西独国特許明細書第 2, 854, 342 号において記載されている。これらの文献においては、撥水性を有し、親水性切断端を介して残留液を吸収することのできる紙が用いられている。撥水性を有する紙

を試薬マトリックスの下部に配置することによって二層系が構成されている。

紙においては機械的安定性及び不均一な表面に関する問題点があるので、これらの欠点を有さない試薬支持体として、最近においては薄層ポリマーフィルムが広範囲において好まれている。均一な表面状態を有する試験片は、特に反射光度測定において極めて重要である。この種の試験片は、例えば、西独国特許明細書第 1, 598, 153 号及び西独国特許明細書第 2, 332, 760 号において記載されている。

前者の特許明細書において記載されている試験片は、過剰の試料を施し、所定時間後に拭き取ることによってこれを除去するように設計されている。後者の特許明細書においては、親水性の微孔性ポリマー層を介して試料を導入し、そこから、その下部の試薬層中に通過させている。

しかしながら、ヨーロッパ特許 A-64, 710 号においてより詳細に説明されているよう

に、どちらの系も、浸漬読取り法 (dip and read method) による分析には好適ではない。

ポリマーマトリックスが非対称構造を有する微孔性ポリマー膜から構成される他の試験片の系が、西独国特許明細書第 3, 407, 359 号において記載されている。マトリックスの表面における孔は、全血を施すと血清がポリマーマトリックス内に浸透して検出反応が開始するように構成されている。しかしながら、赤血球は膜の表面上に残留し、拭き取りによって除去される。

西独国特許明細書第 1, 598, 153 号又は西独国特許明細書第 3, 407, 359 号において記載されているような、ポリマーをベースとして製造された試験片を、例えば、尿のような試験液中に浸漬すると、紙試験片とは異なり、試験片を試験液から取り出した後に、試験片の表面の不均一な色変化が起こる。この欠点は、試験片を試料容器の壁上で軽く叩いたり、拭き取ったりしても排除されない。不均一な呈色反応は、プラスチックの表面の不均一な湿潤及びこれらマトリッ

クスの極めて低い吸収性を原因とするものである。例えば、これらの試験片を全血の分析に用いる場合には、上述したように、過剰の試料を拭き取ることによってのみしか、均一な呈色反応を得ることはできない。しかしながら、この方法による取扱いは、明らかな理由のために、尿試験片の場合においては、不利であり非通常のなものである。

したがって、本発明の目的は、プラスチックをベースとしており、紙によって製造された試験片と同様に簡単に取扱うことができるが、同時に、合成プラスチックから製造されたフィルム片の有利性を有する、即ち、表面状態、化学構造及び層の厚に関する変化が小さく、機械的安定性が良好な試験片を開発することである。

同様の目的を有する研究が、ヨーロッパ特許A-64, 710号において記載されている。この文献においては、上記問題を解決するために、支持体：それに固着せしめられており、液体試料を遅れて吸収する層：上記の層の上部に固着せし

として変化する。その結果、試験反応の直後にはより強度の高い色が観察され、これが、乾燥するにつれてより淡色化し、これがポリマーネットワークの反射特性によって悪影響を受ける可能性がある。

また、ポリマー繊維のネットワーク構造によって、特に低い分析濃度において不規則な色領域が形成される可能性がある。これは、ポリマー繊維に直接接している反応域の点において、ポリマー繊維と直接接していない試薬の表面上の点とは異なる試験液の浸透又は蒸発挙動が示されるので、より強度の高い色変化が示されるためである。

ヨーロッパ特許A-64, 710号において記載されている系においては、たとえば低及び高濃度範囲のグルコース用の2つの隣接する試験領域を通常のポリマーネットワークによって試験片に固着させると（例えばDiabur試験5000®）、構造が複雑になる可能性がある。しかして、特に、それ自体は低濃度範囲の試験領域との呈色反応のみを

められているポリマー試薬層：並びに、この層を被覆しているポリマー繊維製のネットワーク層から構成される多層試験具が提案されている。過剰量の液体試料は、被覆ネットワーク層（細目ポリマー繊維）によって、試薬層の下側に配置された吸収層（撥水性を有する紙）中に移動し、そこで、切断端を介して吸収される。

ポリマーネットワークの更なる機能は、これを設けた結果、試薬層の表面上に液の薄膜を保持し、これを徐々に拡散又は蒸発させることによって、均一な湿潤及び吸収に関するポリマー試薬層の上記の不利な特性を補償することである。

ヨーロッパ特許A-64, 710号において記載されている試験部材は、通常の紙試験片と比較して、表面状態に関しては有利性を示すが、試験反応においては、特に、複雑な多層構造のために不利な効果が生じる。

しかして、ポリマーネットワーク中に液体の膜がはじめに粘着して残留し、これが徐々に乾燥除去されるので、反応の色が、試験後に時間の関数

開始させるべきである低濃度のグルコースを有する試料の場合においては、特に、高濃度範囲領域の境界部において色の変化がしばしば観察される。これは、ポリマー繊維と反応領域の境界部との間に液ブリッジが形成されるためである。上層試験液が蒸発すると、その結果、この部分において分析によって測定すべき物質の濃度が上昇し、色の強度が増加することになる。

したがって、本発明は、多孔性、特にマクロ細孔性のポリマー膜の新規な製造方法に関する。

これらの膜は、実質的に、溶液中において不相溶性の、即ち、同じ溶液中において相分離を起こす少なくとも2種類のポリマーから構成される。凝縮性で不相溶性のポリマー系の更なる詳細は、文献(Paul J. Flory, Principles of Polymer Chemistry, Ithaca, N.Y. 1953を参照)から得ることができる。不溶性充填剤をこの不安定な溶液中に分散させることによって、溶液を安定な均一分散液に転化させることができる。次に、この分散液を注型溶液として基材に施す。この注型溶液

から、転相としても知られている沈殿凝固によって膜を製造する。

この方法の基本原理に関する情報は、例えば、H. Strathmann の "Trennungen von molekularen Mischungen mit Hilfe synthetischer Membranen (The Separation of Molecular Mixtures by means of Synthetic Membranes)", Steinkopff-verlag, Darmstadt (1979) 及び D.R. Lloyd の "Materials Science of Synthetic Membranes", ACS Symp. Ser. 269, Washington, D.C. (1985) によって与えられている。

沈殿凝固で得られる典型的な膜の構造もこれらの文献において記載されている。それらは、常に、膜の表面上に不浸透性ポリマー層を有し、膜の内部において相当に高い多孔性を有する非対称膜構造である。孔の構造は、注型溶液の配合に依存して、指状 (finger-like) であっても、泡状であってもよい。膜の表面に不浸透性のポリマー層を設けると、その結果、通常の膜においては孔径が制限され、概して約 8 ~ 10 μ m 以下となる。こ

配合は、溶解パラメーターによって均一なポリマー溶液が得られるように構成されているものである。例えば、セルロースアセテートとポリメチルメタクリレートとの混合物からなり、1種類のポリマーから構成される通常の膜と比較して向上した浸透性を有する膜がヨーロッパ特許 A-66, 408 号に記載されている。しかしながら、この場合においては、その向上は、同等の溶解度パラメーターを有する特定の極めて狭い混合比のポリマー配合物を基準とするものである。このタイプの膜は多孔性が向上しているが、本発明の膜に固有の優れた吸収性又は試験液による均一な湿潤性は未だ有していない。

ここで、非常に驚くべきことに、膜の製造において、ある種の充填剤と組み合わせたポリマーの混合物から成る注型溶液を用いることによって、優れた吸収性を有し液体による均一な湿潤を与える、合成ポリマーから構成される膜マトリックスが得られることが見出された。

これは、驚くべきことに、それ自体が不相溶性

のタイプの膜は、通常、本発明の膜が有するような紙と同等の吸収性を有さない。

更に、沈殿凝固膜の製造に用いるポリマー注型溶液は、均一なものでなければならず、そうでなければ不安定な膜が得られることが公知である。この理由のために、膜注型溶液は、通常、ポリマーと溶媒又は溶媒混合物とからなる (例えば、ジメチルアセチアミド中ポリアミド又はアセトン/ホルムアミド中セルロースアセテート)。

特定配合のポリマー注型溶液によって浸透性を向上させた膜を製造する試みが既に行なわれている。かかる膜は、Chem. Pro. Res. Dev. 22 (1983), 320 ~ 326 頁又は西独国特許明細書第 3, 149, 976 号において記載されており、これらを製造するために、水溶性ポリマー、例えばポリビニルピロリドンを含むポリマー注型溶液を用い、このポリマーを水中における凝固の過程で溶解して、孔の径を増加させている。

ポリマーの混合物から構成される膜もまた記載されている。しかしながら、対応する注型溶液の

であり、いかなる混合比でも非混和性であるポリマーを、いかなるものであっても、ある種の不溶性充填剤をその中に分散させることによって、均一な注型溶液に転化させることができるということを見出したことによるものである。

例えば、ジメチルホルムアミド中ポリウレタンの 20 重量% 溶液 (P U / D M F 溶液) 及びジメチルホルムアミド中ポリアクリロニトリルの 20 重量% 溶液 (P A N / D M F 溶液) を攪拌しながら混合すると、短時間放置した後に相分離が起こる。このタイプの混合物は不安定なものであり、膜製造用の注型溶液としては不適当なものである。

一方、同様のポリマー/D M F 溶液中に、充填剤、例えばタルクを、同時に又はその後に分散させて配合すると、沈殿凝集方法による膜の製造に好適な均一で安定な注型溶液が得られる。

驚くべきことに、このタイプの注型溶液から製造される膜は、公知の膜と比較して、著しく大きな表面上の孔部、極めて大きな全多孔度及びクロ

マトグラフィー紙に匹敵する著しく大きな吸収性を有する。

本発明のこれらポリマー膜の横断面の電子顕微鏡写真によって示されるように、これらのポリマー膜はフェルト状構造を有する新規な構造のものであり、膜表面上に不透水性ポリマー層を有する非対称構造がほぼ完全に再現される。上記配合の膜の場合には、膜の表面上に30 μ m以下の孔径を確認することができる。

このタイプの多孔性膜マトリックスを製造するためには、ポリマー注型溶液が以下の条件を満足していなければならない。即ち：

個々のポリマー成分の溶液は、互いに混和性であってはならない。混和性系の場合には、通常の注型溶液と同様の明らかな非対称構造を有する微孔性膜構造が得られる：

個々のポリマー成分の溶媒は互いに混和性であってはならない；

非混和性ポリマー成分を均一注型溶液に転化させるために、好適な不溶性充填剤、例えば、無機

(例えば、Arbocel BE 600/30, J. Rettenmaier & Sohne)中に分散させることによって好適な注型溶液を得ることができる。他の好適な充填剤としては、CaCO₃、MgCO₃、ZnO及び酸化鉄類が挙げられる。

用いる充填剤の性質を用いて、例えば着色酸化鉄顔料によって試薬マトリックスの色を変化させて、試薬マトリックスの反射特性に影響を与えることもできる。

充填剤の機能及び作用は、不安定で不均一なポリマー溶液を安定で均一な注型溶液に転化させることである。この「可溶化」の機構は分かっていない。

ポリマー及びこれらのそれぞれの量を選択することによって孔径を制御することができる。充填剤は、孔径に対して実質的に何の影響も与えない。充填剤の粒径は、ポリマー膜の孔径よりも寸法が非常に小さな範囲内のものである。ここで記載したタイプの注型溶液と沈殿凝固法とを組み合わせることによって本発明の膜の孔部が形成され

充填剤をその中に分散させなければならない。

いくつかの場合においては、注型溶液の安定性及び均一性のために、充填剤の性質が重要であることがある。例えば、ポリウレタン/ポリアクリロニトリル混合物と、約3m²/gの比表面積(約0.5~1.0 μ mの粒径)を有する二酸化チタン(TiO₂ RKB₂®, Bayer AG)又は硫酸バリウム(Blanc fixe micronized®, Sachtleben)とから構成される注型溶液は不安定で不均一であるが、タルク(AT 1 タルク, Norwegian Talc)を含む同様のポリマー混合物溶液は、良好な均一性及び分散安定性を有する。

また、大きな比表面積を有する極めて微粒の充填剤、例えば、Degussa P25 二酸化チタン(約40m²/g)又はDegussa Aerosil 200 二酸化珪素(200m²/g)を用いても同様に良好な結果を得ることができる。また、タルクと硫酸バリウム又はタルクとRKB₂TiO₂又はDegussa P25 二酸化チタンと硫酸バリウムとの混合物によっても好適な注型溶液が得られる。また、微晶質セルロース

る。

例えば、本発明の微孔性膜マトリックスを製造するために、以下に示すポリマーと、充填剤としてタルクとから構成される「2成分系ポリマー混合物」を調製した。

セルロースエステル/ポリビニルエステル；

ポリウレタン/ポリアクリル酸誘導体又はアクリル酸コポリマー；

ポリカーボネートコポリマー/ポリウレタン；

ポリビニル誘導体/ポリスルホン；

ポリアミド又はポリイミド/ポリスチレン又はスチレンコポリマー；

ポリパラジメチルフェニレンオキシド/ポリビニリデンフルオリド。

これら2成分ポリマー系の他の配合物及び3成分系ポリマー混合物を用いて本発明の膜を製造することもできる。

好ましいポリマー配合物は、以下に記載するものである(充填剤としてタルクも含む)。

セルロースアセテート (Cellidor CP®) / ポリ
ビニルアセテート (Mowilith®) ;

ポリウレタン (Desmoderm KBH®) / ポリアクリ
ロニトリル (Dralon T®) ;

Desmoderm KBH® / アミン変性Dralon (Dralon
A®) ;

Desmoderm KBH® / アニオン変性Dralon
(Dralon U®) ;

ポリスルホン (Udel P 1700®) / ポリビニリデ
ンフルオリド ;

ポリエーテル—ポリカーボネート / Desmoderm
KBH® ;

Dralon U® / Mowilith® ;

Cellidor CP® / Dralon U® ;

Cellidor CP® / Dralon U® / ポリスチレン ;

Mowilith® / Desmoderm KBH® / ポリビニルク
ロリド。

相分離に必要な、それぞれの特定の配合物にお
けるポリマーの比は好適な方法によって決定する
ことができる。

(Dissolver) によって均一なポリマー注型溶液を
得た。減圧下で抜気した後、ドクターブレードに
よって注型溶液を層厚 150 μm で支持基材に施
し、凝固浴、好ましくは純水中に浸漬した。約
2 分の保持時間の後、かくして得られたポリマー
膜を凝固浴から取出し、加熱空気によって乾燥し
た。

タルクと同様に、以下の充填剤が上記記載の特
に好ましい 3 成分系ポリマー混合物中において好
適であることが証明された。即ち、

微晶質セルロース (Aroclor BE 600/30, J.
Rettenmaier & Sohne) ;

ゼオライト ;

ベントナイト ;

1.0 m²/g 以上の比表面積を有する充填剤 (例
えば、Degussa P 25 二酸化チタン又は Degussa
Aerosil 200 酸化珪素) ;

例えば、二酸化チタン (Degussa P 25) 及び硫酸
バリウム (Sachtleben Blanc fixe micronized) の
ような充填剤の混合物 ;

以下の 3 成分ポリマー系が本発明のマクロ細孔
性膜マトリックスの製造に特に好ましい。

Desmoderm KBH® / Mowilith® / Dralon T®
(Dralon T® を Dralon A® 又は Dralon U® に代え
ることもできる)。

選択的に用いられるポリマーの化学構造は後述
する。

ジメチルホルムアミド (DMF) が、特に好ま
しいポリマー注型溶液を調製するための溶液とし
て極めて好ましいものである。記載すべき他の好
適な溶媒は、用いられるポリマーに依存して、
N-メチルピロリドン (NMP)、ジメチルスル
ホキシド (DMSO)、ジメチルアセチアミド、
ジオキソラン、ジオキサン、アセトン、メチルエ
チルケトン又は Cellosolve® である。

膜を製造する全工程を特に好ましい例によって
以下に示す。タルクを混合物中に分散させなが
ら、それぞれの場合において DMF 中約 2.0 重量
% の濃度の Desmoderm KBH®, Mowilith® 及び
Dralon® のポリマー溶液を混合して、高速攪拌機

タルクと二酸化チタン (Bayer AG RKB2) との混
合物 ;

より大きな比表面積を有する二酸化チタンと、
より小さな比表面積を有する二酸化チタンとの混
合物 (例えば、Bayer AG RKB2 TiO₂/Degussa P25
TiO₂) 又はタルクと硫酸バリウムとの混合物
(Blanc fixe micronized) が特に好適であること
が証明された。

マクロ細孔性膜の製造のために注型溶液中に共
存させて用いることのできる他の成分としては、
界面活性剤、例えばスルホコハク酸ジオクチルナ
トリウム又はドデシルベンゼンスルホネートが挙
げられる。このタイプの界面活性剤は、主とし
て、検出反応中に生成する反応の色を安定化させ
るように作用する。セルロースエーテル、ポリエ
チレングリコール、ポリビニルアルコール又はポ
リビニルピロリドンのような水溶性ポリマーをポ
リマー注型溶液の一成分とすることもできる。他
の好適な添加剤としては、例えば、陽イオンポリ
ウレタン分散液 (Desmoderm Koagulant KPK) のよ

うないいわゆる凝固助剤が挙げられる。

被覆に用いる支持体材料は、最終的な所望の用途によって変化させることができる。支持の無い膜の製造においては、例えば、ガラス又はシリコンで処理された支持体材料を用いることができる。目的物を平板状の膜として用いる場合には、ポリマー膜がその上で良好な接着性を示すポリマー繊維又はポリマー非織布のような、液体に対して透過性の支持材料が用いられる。

本発明のポリマー材料を診断試験片において用いる場合に必要とされるように、正確に定められた多孔度を有する多孔性ポリマーマトリックス(膜)(一定の液吸収率を有する正確な層厚のもの)を製造する場合には、液体に対して不透過性の平滑なフィルムを支持基材として用いることが好ましい。例えば、ポリエチレンテレフタレート、ポリカーボネート、セルロースエステル、ポリエチレン、ポリアミド又は他の熱可塑性ポリマーあるいはポリマー配合物から構成されるポリマーフィルムが好ましい。特に好ましいポリマー

フィルムは、ポリエチレンテレフタレートから構成されるもの、例えば、Hoechst によって製造されているHostaphan®フィルムである。適当な場合には、ポリマーフィルムに接着層又は耐電防止材料を備えることができる。

本発明方法によって、特定の用途に適合させることのできる、極めて良好な多孔性を有する膜を製造することが可能になる。本方法は、マクロ細孔性膜の製造に特に好適である。これに関連して、マクロ細孔性とは、膜表面において10 μ mより大きな平均孔径を有していることを示す。10~50 μ mの平均孔径が好ましく、10~30 μ mの平均孔径が特に好ましい。

良好な吸収特性を有しているので、本発明の膜の主たる使用分野の一つは、診断において用いることのできる試験片の製造においてそれらを用いることである。良好な吸収特性は、尿試験片の場合において特に有利な効果を有する。

かかる試験片を試験液中に浸漬し、試験容器の壁上で拭き取ると、短時間内(通常15~20秒

未満)に、均一な呈色反応が得られ、試験片の表面が乾燥状態で視認される。更に、特に現在公知な試験片と比較すると、実質的により高い強度の色合、並びに、広範囲の濃度にわたる良好な識別性が得られる

検出反応に必要な試薬の導入は、種々の方法、例えば、試薬を注型溶液中に攪拌混入したり、その後に多孔性フィルムに含浸させたり、又は、これらの方法の二つを組み合わせて行うことができる。

試薬導入方法の好ましい変形方法においては、有機溶媒に可溶性であるか又は水に不溶性の試薬をポリマー注型溶液中に導入したり、あるいは、別の含浸工程で、水溶性の試薬を乾燥した多孔性試薬マトリックス中に導入することが挙げられる。

例えば、グルコースを検出するための試薬の好ましい導入は、ポリマー注型溶液中に、例えば3,3'-5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)のようなベンジジジンの色原体を

溶解することによって行なうことができる。注型溶液を、ドクターブレード、押出注型又は他の好適な被覆法によって支持材料に施し(層厚約100~500 μ m)、水中で凝固させる。凝固すると、支持材料に接着している色原体含有多孔性ポリマーマトリックスが得られ、これを乾燥した後、水溶性の緩衝酵素系(グルコースオキシダーゼ又はペルオキシダーゼ)を含浸させる。含浸は、好ましくは、ヨーロッパ特許A-246,505号に記載されている押出法によって行なわれる。

適当な場合には、ポリマー注型溶液中に、水不溶性の有機又は無機染料を導入し、凝固させて着色膜を生成させ、対応する混合色をグルコース反応において生成させることもできる。

例えば、色原体としてTMBを用いるグルコース反応において緑色の反応色を与える黄色の膜マトリックスは、黄色染料Telon Echt Gelb(Bayer AG)を導入することによって得られる。

所望の場合には、含浸工程の後に試験片の低端

部上に残留する液体残留物を吸収する他の吸収材料と本発明のマクロ細孔性試薬マトリックスとを組み合わせ、含浸後に試験容器上で軽く叩くことによってこの残留物を吸収させることができる。このタイプの材料は、含浸工程の間(約1秒)にその吸収容量が満たされないか又は完全には満たされないような構成のものでなければならない。しかしながら、試験片を試験液から取り出したら、過剰の残留液を吸引によって短時間(約5~10秒)内に試験領域から完全に除去しなければならない。好適な材料の例は、その表面が水に対して透過性の層、例えばポリエチレン又はシリコンから構成される層によって変性されている吸収紙である。西独国特許明細書第2, 118, 455号及び同第2, 854, 342号において記載されているように、このタイプの材料は親水性切断端部を介して残留液を吸収することができる。上記特許明細書においては、これらの「液体吸収材」は、試薬マトリックスの下部に取付けられており、多層試験片系の一

要素を形成している。

ここで、驚くべきことに、本発明のマクロ細孔性試薬試験片において、液滴の問題を解決するために、液滴吸収材を試薬試験領域に隣接して有利に取付け、現在において公知の系と異なって単一層の試験片部材を製造することができることが見出された。図1において示されるように、所望の場合には、一つの支持体(1)上において、いくつかの試験領域(2)をいくつかの液滴吸収材(3)と組み合わせることもできる。好ましい単一層部材においては、二層の部材と異なって液滴吸収材の表面を利用することもできるので、液滴吸収材の表面を同様に液体に対して透過性のものとすれば更なる有利性が得られることが更に見出された。これに関して、既に記載したように、液体の吸収は、吸収容量が含浸工程の間には満たされないが、その吸収作用が、試験片を試験液から取り出した後ののみ展開されるように起こらなければならない。ここで、驚くべきことに、例えば乳工業における浚過において用いられているも

のようである種のポリマー不織布がこのタイプの性質を示すことが見出された。好適な「液滴吸収材」の例は、牛乳を浚過するためのセルロース不織布、例えば、Freudenbergによって製造されているFPM 2687タイプのものである。遅延吸収挙動(delayed absorption behavior)は、このタイプの不織材料に水、水溶液又は尿を供給すると観察することができる。

更に見出されたように、強力かつ迅速な吸収を示す材料の表面に、ある種のポリマー溶液、又は好ましくは水性ポリマー分散液を被覆することによって、遅延吸収挙動を与えることもできる。例えば、それら自体は液滴吸収材として好適ではない、強吸収性の紙、不織布又はポリマー繊維を水性ポリマー分散液、好ましくはイオン性ポリウレタン分散液で被覆することによって、被覆面を介して遅延吸収に必要な性質を有する材料を製造することができる。強吸収性の材料の表面に、細目ポリマー繊維(例えば、Nybolt PA 15/10®ポリアミド繊維、Schweizer Seidengazefabrik AG,

Zurich)を備えることによって同様の効果を得ることができる。

図1に対応する多孔性試薬片材料を記載されている液滴吸収材と共に試験片取付け部材上に固着させて水性試験溶液中に浸漬すると、試験領域の表面上に液体の上層膜の見られない試験片が溶液から取り出してから数秒後に得られ、その液滴吸収材も数秒(約10秒)後にはその表面が乾燥して視認されるようになる。

既に記載したように、液滴吸収材の吸収特性は、それを、好ましくは水性ポリマー分散液で被覆することによって与えることができる。適当な場合には、SiO₂(Degussa Aerosil 200)又は二酸化チタン(Degussa P 25もしくはBayer AG RKB2)のような充填剤を、充填剤に対する水性分散液の重量比0.01~0.5の範囲内でポリマー分散液に加えることができる。

液滴吸収材と試験領域とを配置する他の好適な可能な手段は、西独国特許明細書第3, 520, 847号及び同第2, 854, 342号において

記載されている方法を組み合わせることによって行なうことができる。

本明細書の実施例においては、本発明のマクロ細孔性試薬マトリックス又は「液体に対する遅延吸収性を有する液滴吸収材」を約5×5mmの大きさに切断し、図1にしたがって、両面接着テープによってそれらをポリスチレン試験片取付け部材(Iricyte®; 5×80mm)上に接着することによって試験片を製造した。また、本発明のマクロ細孔性試薬マトリックスを、凝固法によって、粘着性の取付け部材上に、直接、「領域」状に施し、次に、液滴吸収材を、これら「領域」間の間隙部分に固着させることもできる。しかしながら、試薬マトリックス及び液滴吸収材の他の配置も考えられる。

マクロ細孔性試薬マトリックスの製造、これらマトリックスによる種々の検出反応、液滴吸収材の製造及び本発明による吸収材と試験片との組み合わせを以下の実施例において示す。

実施例1

4-アミノアンチピリン	1ミリモル/l
3,5-ジクロロ-2-ヒドロキシベンゼンスルホン酸のナトリウム塩	10ミリモル/l
Triton X 100	100 mg/l
グルコースオキシダーゼ	40 Ku/l
ホスフェートバッファー中のペルオキシダーゼ (0.2 M, pH 5.5)	5 Ku/l

予備試験において、短時間含浸し、加熱空気ドライヤーを用いて乾燥することによって(a)で製造された支持膜の含浸を行なった。

製造条件下における含浸は押出成型機を用いて行なった。

試験のために、グルコース濃度を増加させたグルコース水溶液(0, 100, 250, 500, 1000, 2000及び3000 mg/dl)中に試験片を浸漬し、次に試験容器の壁上で軽く叩くことによって試験片を製造した。広範囲の試験のために、水溶液を尿に代えた。

結果:

試験片の表面は、約5秒後に過剰の残留液が存在しない状態になった。グルコース濃度の増加に

尿グルコース試験片の製造

(a) マクロ細孔性膜マトリックスの製造

濃度17%のDralon U/DMF溶液 21.6 g、濃度20%のポリウレタン(KBH)/DMF溶液 65.2 g、濃度25%のMovilith 50/DMF溶液 86.6 g、ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム 22.5 g、AT1クルク 14.8 g、硫酸バリウム(Blanc fixe micronized) 59.4 g、陽イオンポリウレタン分散液(Bayer AG KPK) 17.3 g及びジメチルホルムアミド 140.0 gを、高速攪拌機(Dissolver)によって処理して均一な分散液を得た。減圧下で抜気した後、この溶液を、ドクターナイフによって、層厚150µmの被覆として、厚200µmのポリエチレンテレフタレートフィルム(PET, Hostaphan®)に施し、水中において45℃で3分間凝固させた。かくして得られた、支持フィルムに接着しているポリマーマトリックスを加熱空気によって乾燥した。

(b) 試薬溶液の含浸

以下の組成の含浸溶液を用いた。

対応して高くなる色強度を示す均一な赤色の色合が形成され、色勾配はグルコース濃度1000 mg/dl以下で識別可能であった。

実施例2

尿グルコース試験片の製造(注型溶液中に色原体を混入)

(a) マクロ細孔性色原体含有膜マトリックスの製造

実施例1aにおいて示した配合物に、3,3',5,5'-тетрамチレンベンジジン(TMB) 12.0 gを更に加えた。実施例1のようにして色原体含有注型溶液を更に処理して、PETフィルムに接着している無色のTMB-含有膜を得た。以下の含浸溶液を用いてこの膜を実施例1bと同様に含浸した。

(b) 酵素溶液の含浸

以下の含浸溶液を用いた。

クエン酸塩バッファー(0.2 mM, pH 5.5) 100 ml中、GOD 43 KU、POD 100 KU及びTriton X 100 0.2 g。

試験結果:

試験片を試験溶液中に浸漬し、試験容器の壁上で軽く叩くと、約5秒後に液体が残留しない試薬領域が得られ、これは、グルコース濃度の増加に対応して色強度の増加する青色の色合を示した。また、色勾配の識別はグルコース濃度2000 mg/dl以下において観察することができた。

実施例3

黄色の背景染料を有する尿グルコース試験片の製造

実施例1に記載の注型溶液に、TMB 12.0 g及び黄色の水不溶性染料(Bayer AG Telon Echt Gelb®)を更に加えた。実施例2のようにして更なる処理及び含浸を行なった。グルコースの検出において緑色の色調を与える黄色の試薬マトリックスが得られた。実施例と同様に、グルコース濃度2000 mg/dl以下において色勾配を識別することができた。

実施例4

液滴吸収材を有する尿グルコース試験片の製造

berg不織布(FFM 2695)を実施例4と同様に液滴吸収材として用いた。尿中で試験すると、上層試験液が試薬領域上及び液滴吸収材上の両方において検知され、これは試験容器上で軽く叩くだけでは除去されなかった。したがって、上記記載の不織布は液滴吸収材として用いるのには不適当なものであった。

しかしながら、この強吸収性不織布を、水性ポリマー分散液で被覆し、乾燥することによって、遅延吸収に必要な特性を与えることができた。水性分散液は陰イオンポリウレタン分散液(Bayer AG DLN®)であった。湿潤被覆を50µmの厚に施し、その後、循環空気乾燥キャビネット中で70℃で乾燥を行なった。

図1にしたがって製造された診断試験片は、尿中で浸漬した約10～15秒後に上層試験液の存在しないものとなった。

実施例5

蛋白質検出用試験片の製造

(a) マクロ細孔性膜マトリックスの製造

Freundenbergによって商品名FFM 2687で製造されている不織布を「液滴吸収材」用の材料として用いた。これはバインダーとして合成樹脂ポリマーを有するセルロース不織布であった。水滴を供給すると、この不織布は遅延吸収挙動を示した。液滴は約5秒間表面上に滞留し、その後、不織布材料中に浸透した。図1に対応する診断試験片を製造し、液滴吸収材を、両面接着テープによって試験片取付け部材の下端部に固着させた。

この試験片を、グルコースを含む尿標準溶液中に浸漬し、試験容器の壁上で軽く叩くことをせずに実験台の上に水平に載置した。数秒後、試薬マトリックスの表面に液体が存在しない状態になり、続いて更に数秒後に液滴吸収材の表面に液体が存在しない状態となった。試薬領域上に均一な色合が形成された。

実施例5

液滴吸収材の製造

極めて強力かつ迅速な浸透性を有するFreuden-

以下の配合の注型溶液を用いた。

濃度17%のDralon U/DMF溶液	21.6g
濃度20%のポリウレタン(KBH)/DMF溶液	65.2g
濃度25%のMowilith 50/DMF溶液	86.6g
ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム	22.5g
ジメチルホルムアミド	140.0g
二酸化チタン(Degussa P25)	14.8g
二酸化チタン(Bayer AG RKB2)	59.4g
3,3'-5,5'-テトラメチルベンジジン	12.0g
陽イオンポリウレタン分散液(Bayer AG KPK)	17.3g

上記配合の注型溶液を実施例1と同様に更に処理して、支持材をベースとしたマクロ細孔性ポリマー膜を得た。

(b) 含浸溶液の調製

以下の配合の含浸溶液を用いた。

テトラブロモフェノールブルー0.24gを、エタノール40ml及びクエン酸バッファー(0.5mM、pH3.3)50ml中に溶解した。この溶液を蒸留水で100mlにした。

膜マトリックスを含浸させて乾燥すると試験片

が得られ、これを、アルブミンを含有する尿で試験した

アルブミンの濃度は、0、30、50、100及び300mg/mlであった。アルブミンの濃度の増加に対応して、青緑色の強度の増加が検出された。

実施例7.

ケトン検出用の試験片の製造

実施例1に記載の膜マトリックスに以下の配合の含浸溶液を含浸させた。

ナトリウムニトロプルシド (sodium nitroprusside) 1.7g及び硫酸マグネシウム16.4gを蒸留水20ml中に溶解した。

水酸化ナトリウム溶液でpHを9.4に調節した。

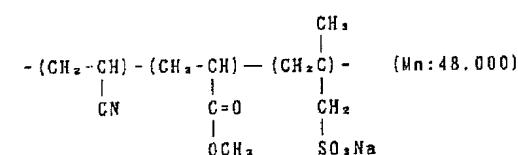
アセト酢酸0、15、40、80及び120mg/mlを含む溶液中で試験を行なった。ケトンの存在下において紫色の色合が観察され、アセト酢酸の含量が増加するにつれて色強度が増加した。

れたポリエステル (MW=2250) 25部、1,4-ブタンジオール25部及びジフェニルメタンジイソシアネート85部を反応させることによって得られた熱可塑性ポリ付加物。

Dralon T® (Bayer AG)

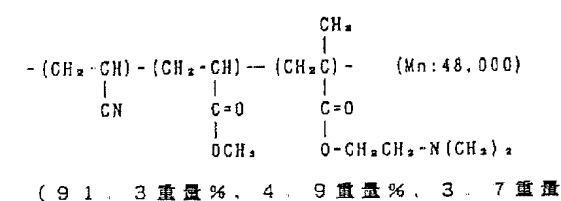


Dralon U® (Bayer AG)



(91.5重量%、5.0重量%、3.5重量%)

Dralon A® (Bayer AG)



実施例8

グルコースオキシダーゼ検出用の試験片の製造

実施例2に記載のTMBを含む膜マトリックスに、以下の飲料溶液を含浸させた。

クエン酸塩バッファー (pH5.5) 100ml中のペルオキシダーゼ100KU及びD(+)グルコース1.0g。

乾燥させた後、以下の試験溶液で試験した。

クエン酸塩バッファー (pH5.5) 中、2、10、20、40及び80U/mlのグルコースオキシダーゼ。

酵素濃度の増加に対応した色強度の増加を示す青緑色の色合が速やかに観察された。

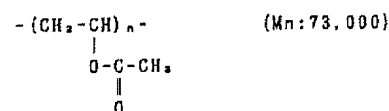
本実施例において選択的に用いたポリマーの化学構造は以下の通りである。

ポリウレタン (Bayer AG KBH ®)

アジピン酸とエチレングリコール70モル%及び1,4-ブタンジオール30モル%とから得られたポリエステル (MW=2000) 75部、アジピン酸と1,4-ブタンジオールとから得ら

%)

Mowilith 50 ® (ポリビニルアセテート, Hoechst AG)



陽イオンポリウレタン分散液 (Bayer AG KPK ®)

このポリウレタン分散液は、凝固助剤として作用し、アジピン酸、フタル酸及びエチレングリコールから得られるポリエステル (MW=1700) 200部：トルイレンジイソシアネート50部：N-メチルジエタノールアミン20部：及びp-キシレンジクロリド6部から得られる反応生成物の、陽イオン性の、懸濁剤を含まない分散液である。

陰イオンポリウレタン分散液 (Bayer AG DLN ®)

このポリウレタン分散液は、アジピン酸、ヘキサジオール及びネオペンチルグリコールから得られるポリエステル (MW=1700) 82部：ヘキサメチレンジイソシアネート15部：エチレ

ンジアミン・エタノールスルホン酸ナトリウム塩
2部；及びエチレンジアミン1部から得られる反
応生成物の濃度40%の水性分散液である。

4. 図面の簡単な説明

図1は、本発明の一実施態様による、試験領
域及び液滴吸収材を有する試験片の概念図であ
る。

- 1 . . . 支持基材；
- 2 . . . 試験領域；
- 3 . . . 液滴吸収材。

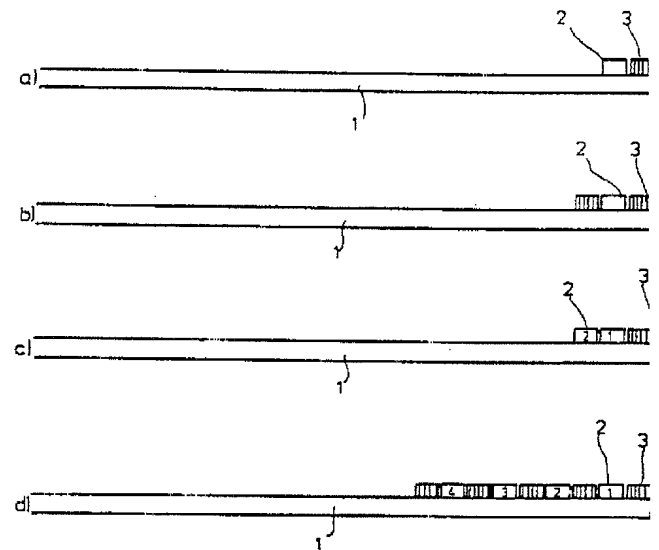


FIG.1

第1頁の続き

⑦発 明 者

クラウス・ヴェーリン
グ

ドイツ連邦共和国、デイー - 5600 ヴツベルタル 1、ア
ム・ローム 3